

Seleksi Berbasis Marka Molekuler pada Padi Generasi F₂ Guna Merakit Galur Padi Harapan Tahan Wereng Coklat

Nono Carsono^{1*}, Gigih Ibnu Prayoga², Neni Rostini¹, dan Danar Dono³

¹Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

²Alumni Program Pasca Sarjana, Universitas Padjadjaran

³Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21, Jatinangor 45363

*Alamat korespondensi: n.carsono@unpad.ac.id

ABSTRACT

Molecular Marker-based Selection on F₂ Progeny for Development of Promising Rice Lines Resistant to Brown Planthopper

Brown planthopper (BPH) is the major insect pest of rice and accounts for significant yield loss. This experiment was aimed to develop BC₁F₁ and F₃ brown planthopper resistant rice lines. Selection on the basis of SSR markers can be done by using two polymorphic SSR markers, i.e., RM586 dan RM8213, which screened from eight SSR markers for BPH resistant. Sixty-three F₂ genotypes from IP-1 (derived from IR-64 x PTB-33) population and twenty F₂ genotypes from PP-11 (derived from Pandan Wangi x PTB-33) population were selected and will be used for further research by selfed and backcrossed to recipient parents. Chi-squares test for segregation of DNA bands in F₂ generation showed that RM8213 fitted with 1:2:1 Mendelian ratio for controlling photosynthetic rates and trichomes length in IP-1 population. This information could be used in programs to develop a durable brown planthopper resistant rice cultivar.

Keywords: BPH, F₂ population, Molecular marker, SSR

ABSTRAK

Wereng coklat merupakan salah satu hama utama pada tanaman padi yang mampu menurunkan produksi padi secara nyata. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh galur-galur padi F₂ yang memiliki marka-marka yang berasosisasi dengan ketahanannya terhadap wereng coklat. Seleksi pada galur padi F₂ hasil persilangan telah dilakukan melalui teknik marka molekuler *Simple Sequence Repeat* (SSR) menggunakan dua marka SSR yang menunjukkan polimorfisme yaitu RM586 dan RM8213 dari delapan marka yang diskriminasi. Sebanyak 63 genotip dari populasi IP-1 (hasil persilangan IR-64 x PTB-33) dan 20 genotip dari populasi PP-11 (hasil persilangan Pandan Wangi x PTB-33) untuk disilangkan sendiri maupun disilang balik dengan tetua recipient. Selain itu, hasil analisis Chi-Kuadrat untuk segregasi pita DNA menunjukkan bahwa primer RM8213 memiliki rasio 1:2:1 (dominasi tidak sempurna) dalam mengontrol karakter laju fotosintesis dan panjang trikoma terhadap wereng coklat pada populasi IP-1. Informasi yang diperoleh dari penelitian ini nantinya dapat digunakan untuk program perakitan kultivar padi tahan wereng coklat yang durable.

Kata Kunci: Marka molekuler, Populasi F₂, SSR, Wereng coklat

PENDAHULUAN

Wereng coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.) telah diketahui menjadi hama utama penyebab berkurangnya produksi padi dengan cara menghisap langsung cairan tanaman atau sebagai vektor virus

kerdil rumput (Rivera *et al.*, 1966 dalam Sun *et al.*, 2005) dan kerdil hampa (Ling *et al.*, 1978 dalam Sun *et al.*, 2005). Walaupun telah dilakukan pengendalian dengan menggunakan kultivar tahan, namun terus menerus terpatahkan karena penanaman kultivar yang sama secara terus

menerus, pemakaian insektisida yang kurang bijaksana, dan sanitasi yang kurang baik akan mendorong munculnya biotipe baru wereng coklat (Soewito *et al.*, 1995 dalam Qomaroodin, 2006). Untuk mengatasi masalah tersebut, diperlukan pengendalian yang bersifat ramah lingkungan, antara lain dengan menggunakan kultivar tahan wereng dengan ketahanan horizontal. Mengembangkan padi yang tahan terhadap serangan wereng adalah pendekatan yang efektif, lebih ramah lingkungan, dan kompatibel dengan beragam komponen pengendalian hama yang saat ini ada.

Pengembangan kultivar padi tahan wereng coklat dengan karakter agronomi yang diinginkan merupakan tujuan utama pemuliaan tanaman padi. Salah satu metode yang dapat digunakan dalam perakitan tanaman padi tahan wereng coklat yaitu dengan memanfaatkan teknik introgresi yang digabungkan dengan teknik *Marker Assisted Selection* (MAS). Teknik introgresi memanfaatkan gen ketahanan terhadap wereng yang terdapat dalam suatu kultivar yang kemudian digabungkan ke dalam kultivar padi dengan sifat agronomi yang diinginkan.

Teknik introgresi ini akan sangat bermanfaat bagi Indonesia bila dilakukan upaya penggabungan gen tahan wereng coklat ke dalam kultivar padi yang banyak ditanam oleh petani Indonesia seperti IR-64 dan Pandan Wangi. Sumber gen ketahanan terhadap hama dan penyakit dapat diperoleh dari varietas padi liar. Salah satu kultivar padi yang diketahui mempunyai tingkat ketahanan tinggi terhadap berbagai biotipe wereng coklat adalah padi kultivar PTB-33. Ketahanan yang tinggi pada kultivar padi ini dimungkinkan karena gen penyusun ketahanan yang terdiri lebih dari satu gen (ketahanan horizontal). Kultivar PTB-33 diketahui mempunyai lebih dari satu gen ketahanan terhadap wereng coklat yaitu gen *Bph2* (Rongbei *et al.*, 2001 dalam Santhanalakshmi *et al.*, 2010), gen *Bph3* (Jairin *et al.*, 2007a dan Rongbei *et al.*, 2001 dalam Santhanalakshmi *et al.*, 2010), dan gen *Bph4* (Jairin *et al.*, 2007a). Informasi mengenai keberadaan gen-gen pengendali ketahanan wereng coklat ini akan membantu upaya pemulia tanaman untuk merakit kultivar unggul tahan wereng coklat melalui teknik introgresi.

Langkah awal pelaksanaan teknik introgresi adalah pemilihan tetua persilangan. Sebagai tetua donor, kultivar yang dipilih harus memiliki ketahanan terhadap wereng coklat. Metode yang dapat digunakan yaitu melalui studi literatur uji ketahanan (resistensi) terhadap wereng coklat.

Berdasarkan studi literatur, diketahui bahwa kultivar PTB-33 merupakan salah satu kultivar tahan wereng coklat dengan beberapa gen tahan wereng coklat (*Bph*) (Jairin *et al.*, 2007a; Sun *et al.*, 2005; Nugaliyadde *et al.*, 2004; Santhanalakshmi *et al.*, 2010). Selain itu diketahui juga bahwa kultivar PTB-33 memiliki mekanisme ketahanan berupa antibiosis (Baehaki & Abdullah, 2007) dan toleran (Kaneda *et al.*, 1981; Baehaki & Abdullah, 2007).

Langkah selanjutnya pada teknik introgresi adalah menyisipkan gen tahan wereng (*Bph*) ke dalam kultivar tetua *recurrent*. Metode penyisipan gen yang dapat digunakan yaitu melalui persilangan. Hanya saja hal yang perlu diperhatikan adalah adanya kemungkinan terjadinya penurunan ketahanan pada galur padi keturunan. Dari hasil penelitian Datta *et al.* (2007) ditemukan bahwa introgresi padi Golden Rice yang mengandung tiga gen *psy* (*phytoene synthase*), *crtI* (*phytoene desaturase*), and *lcy* (*lycopene cyclase*) yang terlibat dalam *biosynthesis pathway Beta-carotene* di dalam endosperm, ditemukan beberapa galur-galur yang mengandung beta-karoten yang lebih rendah dibandingkan dengan galur asalnya.

Proses seleksi yang tepat sangat diperlukan untuk mencegah terjadinya penurunan ketahanan pada generasi keturunan hasil introgesi. Proses seleksi ini bertujuan untuk menghilangkan segmen DNA yang tidak diharapkan yang dapat memengaruhi ekspresi dari suatu transgen dengan menggunakan marka molekular (Stewart *et al.*, 2003). Salah satu teknik marka molekular yang dapat digunakan untuk menseleksi tanaman berdasarkan deteksi DNA adalah teknik MAS. Teknik MAS memanfaatkan pengetahuan mengenai fungsi gen untuk mendeteksi keberadaan gen pada tanaman. Selain itu, aplikasi MAS yang berbasis marka molekular dapat diterapkan secara efisien guna mendeteksi dan mengkuantifikasi pertukaran gen/genom hasil introgresi serta dapat mempercepat proses seleksi. Setelah aplikasi MAS, maka langkah selanjutnya yaitu melakukan *backcross* pada tanaman F₂ terseleksi. Pada penelitian ini, *backcross* dilakukan untuk memperoleh galur keturunan BC₁F₁ yang akan digunakan pada penelitian selanjutnya.

Salah satu metode yang digunakan dalam pelaksanaan aplikasi MAS adalah metode *Simple Sequence Repeat* (SSR). Metode SSR merupakan salah satu teknik molekular yang sering digunakan untuk penelitian diversitas genetik karena keakuratan informasi yang tinggi dan sangat polimorfik. Hal ini dikarenakan primer SSR merupakan marka ko-dominan yang dapat

membedakan heterosigos dan homosigos (Vienne, 1998). Berdasarkan pertimbangan tersebut, maka pada penelitian ini digunakan metode SSR untuk mendeteksi keberadaan gen *Bph* pada generasi keturunan.

Penggunaan metode SSR untuk aplikasi MAS telah berhasil diaplikasikan pada tanaman padi untuk berbagai tujuan termasuk perakitan kultivar padi tahan hama (Sharma *et al.*, 2004; Jena *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2006; Jena *et al.*, 2009). Beberapa primer SSR yang diketahui terpaut dengan gen tahan wereng coklat adalah RM8072 dan RM19291 yang terpaut dengan gen *Bph3* (Jairin *et al.*, 2007a), RM589 dan RM586, yang diketahui terpaut dengan gen *Bph3* dan *Bph4* ini (Jena & Mackill, 2008; Sun *et al.*, 2005; Jairin *et al.*, 2007b). Selain itu, digunakan juga marka RM8213 dan RM5953 yang diketahui berasosiasi dengan gen ketahanan *Bph17*, serta RM7 yang terpaut dengan *Bph3* (Sun *et al.*, 2005). Marka-marka ini telah digunakan dan berhasil mendeteksi keberadaan gen *Bph* pada kultivar PTB-33, namun belum pernah digunakan pada kultivar lokal yang digunakan pada penelitian ini. Pada penelitian ini hanya digunakan dua marka terpilih, yaitu marka RM586 dan RM8213, yang memberikan hasil terbaik pada pengujian skrining marka yang telah dilakukan sebelumnya.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh galur-galur padi harapan generasi F₂ yang tahan hama wereng coklat. Berdasarkan pemaparan-pemaparan di atas, penggunaan teknik introgresi

yang digabungkan dengan aplikasi MAS merupakan cara yang efektif untuk merakit kultivar padi tahan wereng coklat. Penggunaan MAS sangat bermanfaat untuk membantu proses seleksi galur-galur yang sedang bersegregasi dan memiliki gen-gen yang diharapkan.

BAHAN DAN METODE

Kegiatan penanaman dan persilangan balik (*backcross*) dilaksanakan di rumah kaca, kebun percobaan Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran. Kegiatan skrining marka dilakukan di Laboratorium Analisis Tanaman, Faperta, Unpad. Bahan tanaman yang digunakan adalah populasi IP-1 (hasil persilangan IR-64 x PTB-33) dan PP-11 (Pandan Wangi x PTB-33).

MAS pada Generasi F₂

Seleksi generasi F₂ dilakukan secara molekuler dengan menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan metode SSR. Primer SSR yang digunakan yaitu RM586 dan RM8213 (Tabel 1). Tahapan pengerjaan seleksi marka molekuler secara berurutan yaitu isolasi DNA, dilanjutkan dengan pengujian konsentrasi dan kualitas DNA, amplifikasi DNA dengan PCR, elektroforesis DNA, dan visualisasi DNA. DNA template yang diamplifikasi telah diseragamkan konsentrasinya menjadi 20 ng/μl berdasarkan hasil penghitungan dengan spectrophotometer.

Tabel 1. Marka-marka yang digunakan untuk seleksi marka.

Marka	Sekuen Primer		PCR <i>product size</i>
	Forward	Reverse	
RM586	acctcgcgttattaggtacc	gagatagccaacgagatacc	271 bp
RM8213	agcccagtgatacaagatg	gcgaggagataccaagaag	177 bp

Amplifikasi pada PCR dilakukan dengan menggunakan kondisi amplifikasi optimum dengan mesin PCR Thermocycler. Kondisi optimum diperoleh setelah dilakukan berbagai amplifikasi pada suhu dan waktu yang berbeda-beda. Sebagai standar pengerjaan, amplifikasi fragmen dilakukan dengan mengikuti metode Kumari *et al.* (2010) yaitu satu siklus 94°C selama 5 menit untuk denaturasi awal (pemisahan double helix DNA); 36 siklus: 94°C selama 1 menit untuk denaturasi, 55°C selama 1 menit untuk hibridisasi primer-DNA (annealing), dan 72°C selama 1 menit untuk pemanjangan

(*elongation*); diikuti oleh satu siklus 72°C selama 7 menit untuk *elongation* akhir. Produk hasil amplifikasi selanjutnya dielektroforesis dengan menggunakan agarose gel pada larutan 0,5X TBE yang di-*running* pada tegangan listrik tertentu selama waktu yang ditentukan. Dalam pengerjaannya, dilakukan optimasi kondisi elektroforesis meliputi konsentrasi agarose gel, tegangan listrik dan waktu elektroforesis. Sebagai standar pengerjaan, elektroforesis dilakukan berdasarkan metode Kumari *et al.* (2010) yaitu 3%

agarose gel direndam pada larutan 0,5X TBE buffer dan dialiri tegangan listrik 75 volt selama 90 menit.

Analisis Data

Analisis pada tahap molekuler meliputi pembacaan pita DNA yang terbentuk dan skoring pita DNA. Untuk kegiatan seleksi marka pada tetua persilangan, seleksi dilakukan berdasarkan perbedaan ukuran pita DNA (polimorfisme) yang terbentuk antara kultivar tahan PTB-33 dengan

kultivar lainnya yang dijadikan tetua persilangan. Marka yang menunjukkan polimorfisme antara tetua donor dengan recipient digunakan sebagai marka penseleksi pada generasi keturunan hasil persilangan (Tabel 2). Selanjutnya dilakukan pula skoring pita DNA yang terbentuk sebagai nilai yang digunakan pada analisis korelasi untuk mengetahui hubungan antara marka yang digunakan beserta gen yang terkait (Tabel 2) dengan karakter fisiologis yang muncul pada tetua persilangan.

Tabel 2. Marka yang digunakan dan gen *Bph* yang terkait.

Marka	Gen terkait	Kromosom	Sumber
RM586	<i>Bph</i> 3 dan <i>bph</i> 4	6S dan 6	Jairin <i>et al.</i> (2007a)
RM8213	<i>Qbph</i> 4 dan <i>Bph</i> 17(t)	4 dan 4S	Sun <i>et al.</i> (2005)

Hasil deteksi marka molekuler pada tanaman F₂ selanjutnya dianalisis dengan metode Chi-Kuadrat untuk mengetahui pola pewarisan pita DNA gen *Bph* di generasi F₂. Peubah kualitatif diamati pada setiap karakter dan nisbah fenotipe yang muncul dibandingkan dengan nisbah Mendel. Analisis Chi-Kuadrat untuk marka molekuler dilakukan berdasarkan jumlah alil yang terbentuk. Jika hasil seleksi marka diperoleh hasil bahwa tiap tetua hanya memiliki satu alil, maka analisis Chi-Kuadrat pada generasi keturunan dilakukan dengan model satu pasang alil dengan rasio 1:2:1. Derajat bebas yang digunakan juga bergantung kepada jumlah alil yang terbentuk pada keturunan.

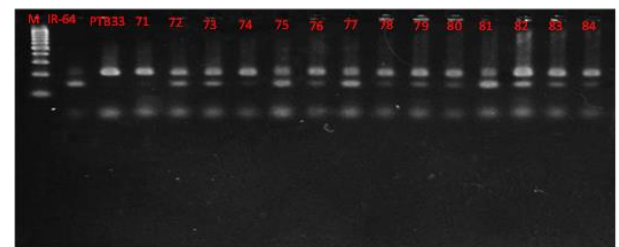
HASIL DAN PEMBAHASAN

Marker Assisted Selection (MAS) pada Populasi IP-1

Sebanyak 242 tanaman dari populasi IP-1 ditanam dan diuji molekuler menggunakan primer RM8213 dengan metode SSR. Contoh hasil visualisasi yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1. Pada populasi IP-1 terlihat jelas adanya segregasi pola pita DNA, dimana terdapat pita yang sama dengan tetua donor ataupun recipient, ataupun memiliki pita dari kedua tetuanya. Namun hanya tanaman yang memiliki pola pita DNA sama dengan tetua donor yang akan dipilih untuk dibackcross dengan tetua recipient.

Tanaman generasi F₂ pada populasi IP-1 yang memiliki satu pita DNA dengan ukuran pita yang sama dengan tetua recipient (IR-64) sejumlah 55 genotip (22,73%), sedangkan tanaman yang memiliki satu pita DNA dengan ukuran pita sama dengan tetua donor (PTB-33) sebanyak 63 genotip

(26,03%). Sebanyak 124 (51,24%) genotip lainnya terdeteksi memiliki dua pita DNA hasil kombinasi dari kedua tetua persilangan. Sebanyak 63 genotip yang terpilih di-backcross dengan kultivar IR-64 untuk memperoleh benih generasi BC₁F₁ maupun disilangkan sendiri untuk memperoleh tanaman generasi F₃ yang digunakan sebagai bahan pertanaman pada penelitian selanjutnya.

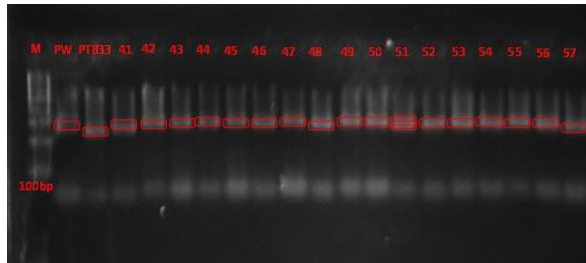


Gambar 1. Visualisasi pita DNA pada generasi F₂ populasi IP-1 hasil persilangan IR-64 x PTB-33 menggunakan RM8213. Nomor-nomor yang tertera menunjukkan nomor genotip. M = DNA Ladder 100bp.

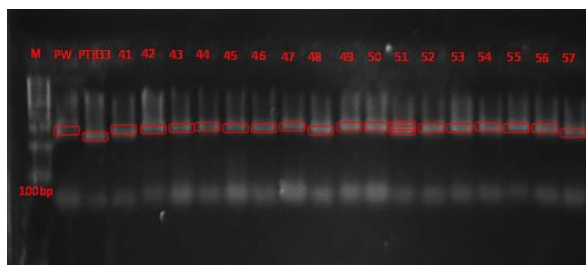
Marker Assisted Selection (MAS) pada Populasi PP-11

Seleksi marka molekuler pada populasi PP-11 menggunakan dua marka yaitu RM586 dan RM8213. Sebanyak 121 tanaman ditanam dan diuji molekuler dengan menggunakan metode SSR. Contoh hasil visualisasi dengan marka RM586 dapat dilihat pada Gambar 2, sedangkan hasil visualisasi dengan primer RM8213 dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan visualisasi hasil SSR dengan primer RM586 yang diperoleh, sebanyak 58 genotip (47,93%) dari populasi PP-11 terdeteksi memiliki

satu pita DNA dengan ukuran pita sama dengan tetua recipient (Pandan Wangi). Sebanyak 54 (44,63%) genotip terdeteksi memiliki satu pita DNA dengan ukuran pita sama dengan tetua donor (PTB-33). Hanya 9 (7,44%) genotip yang terdeteksi memiliki dua pita DNA hasil kombinasi dari kedua tetua persilangan.



Gambar 2. Visualisasi pita DNA pada generasi F₂ populasi PP-11 hasil persilangan Pandan Wangi x PTB-33 menggunakan RM586. Nomor-nomor yang tertera menunjukkan nomor genotip. M = DNA Ladder 100bp; PW = Pandan Wangi.



Gambar 3. Visualisasi pita DNA pada generasi F₂ populasi PP-11 hasil persilangan Pandan Wangi x PTB-33 menggunakan RM8213. Nomor-nomor yang tertera menunjukkan nomor genotip. M = DNA Ladder 100bp; PW = Pandan Wangi.

Visualisasi hasil SSR dengan primer RM8213 menunjukkan hasil yang cukup berbeda dengan marka RM586, dimana hampir setengah dari populasi tanaman memiliki pita DNA menyerupai tetua donor (PTB-33). Sebanyak 53 genotip (43,81%)

terdeteksi memiliki satu pita DNA dengan ukuran pita sama dengan tetua donor (PTB-33), sedangkan hanya 27 genotip (22,31%) yang memiliki satu pita DNA dengan ukuran pita sama dengan tetua recipient (Pandan Wangi). Tanaman yang terdeteksi memiliki dua pita DNA hasil kombinasi dari kedua tetua persilangan yaitu sebanyak 41 genotip (33,88%).

Langkah selanjutnya yaitu menggabungkan data visualisasi dari primer RM586 dan RM8213. Tanaman yang dipilih untuk di-*backcross* dengan tetua recipient adalah tanaman yang memiliki pola pita DNA sama dengan tetua donor pada kedua marka yang digunakan. Berdasarkan analisis yang telah dilakukan, diperoleh sebanyak 20 genotip yang memiliki pola pita DNA tetua donor pada kedua marka, yaitu genotip nomor 4, 5, 7, 31, 32, 36, 37, 38, 39, 41, 46, 48, 51, 57, 58, 59, 60, 65, 102, dan 107. Sebanyak 20 genotip terpilih ini di-*backcross* dengan kultivar Pandan Wangi untuk menghasilkan benih generasi BC₁F₁ maupun disilangkan sendiri (*selfing*) untuk memperoleh tanaman F₃ yang digunakan pada penelitian selanjutnya.

Analisis Chi-Kuadrat Pewarisan Pola Pita DNA pada Generasi F₂

Analisis Chi-Kuadrat untuk marka molekuler dilakukan berdasarkan jumlah alil yang terbentuk. Berdasarkan hasil visualisasi, terlihat bahwa tiap tetua hanya memiliki satu alil, maka analisis Chi-Kuadrat dilakukan dengan model sepasang alil dengan rasio 1:2:1, dan derajat bebas 1. Hasil analisis Chi-Kuadrat menunjukkan bahwa hanya marka RM8213 pada populasi IP-1 yang memenuhi kriteria segregasi pola pewarisan Mendel dengan rasio 1:2:1. Hasil yang berbeda ditunjukkan pada populasi PP-11, dimana kedua primer yang digunakan (RM586 dan RM8213) tidak menunjukkan kecocokan dengan rasio pola pewarisan Mendel (Tabel 3).

Tabel 3. Analisis Chi-Kuadrat pada populasi F₂.

Populasi	Marka	Segregasi marka			χ^2 (1:2:1)	χ^2 (0,05:1)
		D	SG	R		
IP-1	RM8213	63	124	55	0,68 ns	
PP-11	RM586	54	9	58	87,94 *	3,84
	RM8213	53	41	27	23,74 *	

Keterangan: D = pola pita menyerupai tetua donor; R = pola pita menyerupai tetua recipient; SG = pola pita dari kedua tetua (segregasi); ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata dengan χ^2 tabel pada taraf 5%.

Perbedaan hasil yang diperoleh primer RM8213 pada kedua populasi dapat diakibatkan oleh karakter fisiologis yang terkait pada marka tersebut. Berdasarkan analisis yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya, diketahui bahwa RM8213 terkait erat dengan karakter laju fotosintesis dan panjang trikoma. Keterkaitan dua karakter sekaligus pada satu marka diduga memengaruhi pola pewarisan pita DNA.

Hasil penelitian pendahuluan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pada karakter panjang trikoma, kultivar PTB-33 menunjukkan adanya perbedaan panjang yang nyata dengan kedua tetua recipient (IR-64 dan Pandan Wangi). Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh karakter laju fotosintesis. Laju fotosintesis antara kultivar Pandan Wangi dan IR-64 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata, sedangkan laju fotosintesis antara kultivar IR-64 dan PTB-33 terdapat adanya perbedaan walau tidak terlalu signifikan. Adanya perbedaan nyata pada kedua karakter fisiologis antara kultivar IR-64 dan PTB-33 menyebabkan pola pita DNA populasi IP-1, keturunan hasil persilangan IR-64 x PTB-33, mengikuti pola pewarisan Mendel dengan rasio 1:2:1, sedangkan laju fotosintesis yang tidak berbeda nyata antara kultivar Pandan Wangi dan PTB-33 menyebabkan pola pita DNA populasi PP-11, keturunan hasil persilangan Pandan Wangi x PTB-33 tidak mengikuti pola pewarisan Mendel.

Hal yang sama juga berlaku untuk primer RM586, dimana penelitian sebelumnya, mengenai kandungan protein antara tetua persilangan, diketahui bahwa kandungan protein antara kultivar PTB-33 (0,128) dengan kultivar Pandan Wangi (0,153) tidak terlalu berbeda jauh. Kedekatan nilai kandungan protein diantara kedua kultivar tetua ini menyebabkan rasio pewarisan pola pita DNA tidak mengikuti hukum Mendel. Selain itu, hasil pengujian kecocokan marka SSR untuk ketahanan penyakit *blast* pada padi yang telah dilakukan Ashkani *et al.* (2012), diperoleh hasil bahwa hanya 4 marka dari 11 marka SSRs yang digunakan memenuhi rasio 1:2:1, dengan dugaan gen dominan tunggal yang terkait pada setiap marka. Namun, hal yang sedikit berbeda ditemukan pada penelitian ini yaitu marka yang terpilih diketahui terkait dengan dua gen sekaligus (hasil skrining marka). Adanya perbedaan jumlah gen yang terkait dengan marka juga diduga ikut memengaruhi pola pewarisan pita DNA pada generasi keturunan.

Hasil ini menjelaskan bahwa primer

RM8213 hanya menunjukkan adanya dominasi tidak sempurna pada salah satu populasi karena marka tersebut terkait dengan dua karakter (laju fotosintesis dan panjang trikoma) dan dua gen [gen *Qbph4* dan *Bph17(t)*] sekaligus. Pada karakter fisiologis, jika kedua tetua persilangan memiliki nilai yang sama atau berdekatan, baik pada salah satu atau kedua karakter terkait, maka rasio pewarisan pola pita DNA tidak akan mengikuti pola pewarisan Mendel. Namun, jika kedua tetua persilangan memiliki nilai yang berbeda nyata pada kedua karakter terkait, maka pola pita DNA yang terbentuk akan mengikuti pola pewarisan Mendel dengan rasio 1:2:1.

SIMPULAN

1. Sebanyak 63 genotip dari populasi IP-1 dan 20 genotip dari populasi PP-11 telah diseleksi berdasarkan marka molekuler untuk disilang balik (*backcross*) dengan tetua recipient maupun disilang sendiri (*selfing*).
2. Primer RM8213 menunjukkan rasio 1:2:1 (dominasi tidak sempurna) dalam mengontrol karakter laju fotosintesis dan panjang trikoma untuk ketahanan terhadap wereng coklat pada populasi IP-1.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashkani, S, MY Rafii, I Rusli, M Sariah, Abdullah, NA Siti, HA Rahim, and MA Latif. 2012. SSRs for marker-assisted selection for blast resistance in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Mol Biol Rep. 30: 79-86.
- Baehaki, SE, dan B Abdullah. 2007. Evaluasi karakter ketahanan galur padi terhadap wereng *coklat* biotipe 3 melalui uji penapisan dan uji peningkatan populasi. Apresiasi Hasil Penelitian Padi. 367-382.
- Datta, SK, K Datta, V Parkhi, M Rai, N Baisakh, G Sahoo, S Rehana, A Bandyopadhyay, Md Alamgir, Md.S Ali, E Abrigo, N Oliva, and L Torrizo. 2007. Golden rice: Introgression, breeding and field evaluation. Euphytica. 154: 271-278.
- Jairin, J, S Teangdeerith, P Leelagud, K Phengrat, A Vanavichit, and T Toojinda. 2007a. Detection of brown planthopper resistance genes from different rice mapping populations in the same genomic location. Science Asia. 33: 347-352.

- Jairin, J, K Phengrat, S Teangdeerith, A Vanavichit, and T Toojinda. 2007b. Mapping of a broad-spectrum brown planthopper resistance gene, *Bph3*, on rice chromosome 6. *Mol Breeding*. 19: 35-44.
- Jena, KK, JU Jeung, JH Lee, HC Choi, and DS Brar. 2006. High-resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18(t)*, and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 112: 288-297.
- Jena, KK, and DJ Mackill. 2008. Molecular markers and their use in marker-assisted selection in rice. *Crop Sci.* 48: 1266-1276.
- Jena, KK, JP Suh, JH Lee, SJ Yang, A Pamplona, and YG Kim. 2009. Development of brown planthopper (BPH) resistant breeding lines using marker-assisted selection in rice. *Crop Sci.* 48(4): 1266-1276.
- Kaneda, C, K Ito, and R Ikeda. 1981. Screening of rice cultivars for resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal., by three genotypes. *Japan. J. Breed.* 31(2): 141-151.
- Kumari, S, JM Sheba, M Marappan, S Ponnuswamy, S Seetharaman, N Pothi, M Subbarayalu, R Muthurajan, and S Natesan. 2010. Screening of IR50 3 Rathu Heenati F7 RILs and identification of SSR markers linked to brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal.) Resistance in Rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Biotechnol.* 46: 63-71.
- Li, JB, MY Xia, HX Qi, GC He, BL Wan, and ZP Zha. 2006. Marker-assisted selection for brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal.) resistance genes *Bph14* and *Bph15* in rice. *Sci. Agric. Sin.* 39: 2132-2137.
- Nugaliyadde, L, DS Des Abeysiriwardena, LGA Samanmalee, R Pathirana, and RM Wilkins. 2004. Inheriatnce of resistance in rice to brown planthopper: its implications on rice varietal improvement in Sri Lanka. Available online at: http://www.goviya.lk/agri_learning/Paddy/Paddy_Research/Paddy_pdf/P3.pdf. (accessed 26 November 2010).
- Qomaroodin. 2006. Teknik uji ketahanan varietas/galur harapan padi pasang surut terhadap wereng coklat (*Nilavarvata lugens* Stal.). *Buletin Teknik Pertanian*, Vol 11 (2).
- Santhanalakshmi, S, S Saikumar, and S Rao. 2010. Mapping genetic lokus linked to brown planthopper linked to rice *Oryza sativa* L. *Intl. J. Plant Breeding and Genetics.* 4: 13-22.
- Sharma, PN, A Torii, S Takumi, N Mori, dan C Nakamura. 2004. Marker-assisted pyramiding of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal.) resistance genes *Bph1* and *Bph2* on rice chromosome 12. *Hereditas.* 140: 61-69.
- Stewart, CNJr, MD Halfhill, and SI Warwick. 2003. Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nature Reviews Genetics.* 4: 806-817.
- Sun, L, C Su, C Wang, H Zhai, and J Wan. 2005. Mapping of a major resistance gene to the brown planthopper in the rice cultivar Rathu Heenati. *Breeding Science.* 55: 391-396.
- Sun, LH, CM Wang, CC Su, YQ Liu, HQ Zhai, and JM Wan. 2006. Mapping and marker-assisted selection of a brown planthopper resistance gene *bph2* in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genetica Sinica.* 33(8): 717-723.

